



29



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 103 30 842 A1-2005.02.10

(12)

Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: 103 30 842.3

(22) Anmeldetag: 08.07.2003

(43) Offenlegungstag: 10.02.2005

(51) Int Cl.⁷: A61K 38/55
A61P 17/00

(71) Anmelder:

Institut für Medizintechnologie Magdeburg GmbH,
IMTM, 39120 Magdeburg, DE

(74) Vertreter:

Koepe & Partner, 80538 München

(72) Erfinder:

Ansorge, Siegfried, Prof. Dr., 39291 Hohenwarthe,
DE; Gollnick, Harald, Prof. Dr., 39120 Magdeburg,
DE; Lendeckel, Uwe, Dr., 39120 Magdeburg, DE;
Neubert, Klaus, Prof. Dr., 06120 Halle, DE;
Reinhold, Dirk, Dr., 39120 Magdeburg, DE; Vetter,
Robert, Dr., 39120 Magdeburg, DE; Schraven,
Burkhard, Prof. Dr., 39120 Magdeburg, DE; Thielitz,
Anja, Dr., 39120 Magdeburg, DE; Faust, Jürgen,
Dr., 14195 Berlin, DE

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:

DE 101 55 093 A1

WO 95/34 538 A2

WO 95/15 309 A1

WO 01/54 707 A2

Chem. Abstr. 132:148871 (2000);

Chem. Abstr. 124:193562 (1996);

JICST-EPlus Abstr.: 890194970 zu Aki Toshiyuki;

Purification and characterization of antisera to
Aminopeptidase M & Dipeptidylpeptidase IV and
their application to fibroblast and fibroplastic
tumors, In: Yonago Igaku Zasshi, 1989, Vol. 40,
No. 1, S. 10-11;

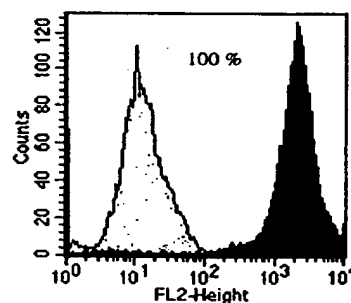
Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gemäß § 44 PatG ist gestellt.

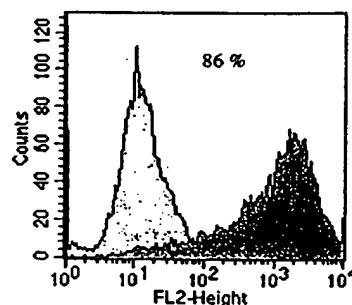
(54) Bezeichnung: Verwendung der Inhibitoren von Enzymen mit Aktivitäten der Aminopeptidase N und/oder der Dipeptidylpeptidase IV und pharmazeutischen Zubereitungen daraus zur Therapie und Prävention dermatologischer Erkrankungen mit Hyperproliferation und veränderten Differenzierungszuständen von Fibroblasten

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Hemmung der für die Proliferation notwendigen DNA-Synthese von humanen Fibroblasten durch die alleinige oder gemeinsame Wirkung von Inhibitoren der von diesen Zellen exprimierten Alanin-Aminopeptidase (APN) und Dipeptidylpeptidase IV (DP IV). Die DNA-Synthese (Proliferation) humaner Fibroblasten wird durch Gabe von Inhibitoren der APN oder/und der DP IV dosisabhängig gehemmt. Unsere Erfindung zeigt, dass zur Therapie und Prävention von dermatologischen Erkrankungen mit fibroblastärer Hyperproliferation und veränderten fibroblastären Differenzierungszuständen die Applikation von Hemmstoffen der oben genannten Enzyme bzw. von diese Hemmstoffe enthaltenden Zubereitungen und Darreichungsformen daraus geeignet sind.

Fibroblasten CD 13-PE



Fibroblasten CD-26-PE



Beschreibung

[0001] Die Erfindung beschreibt die Hemmung der für die Proliferation und Differenzierung notwendigen DNA-Synthese von Fibroblasten durch die Wirkung von Inhibitoren der Aminopeptidase N (APN, EC 3.4.11.2, CD13) oder/und der Dipeptidylpeptidase IV (DP IV, EC 3.4.14.5, CD26) im Ergebnis der einzelnen, simultanen oder zeitlich unmittelbar aufeinanderfolgenden Applikation von jeweils spezifischen Inhibitoren dieser Enzyme oder von Inhibitoren von Enzymen gleicher Substratspezifität (APN- oder/und DP IV-analoge Enzymaktivität) auf der Basis von Aminosäurederivaten, Peptiden oder Peptidderivaten, durch welche die Proliferation (DNA-Synthese) und Differenzierung von Fibroblasten supprimiert und moduliert wird.

[0002] Eine Reihe dermatologischer Erkrankungen gehen mit Hyperproliferation und veränderten Differenzierungszuständen von Fibroblasten einher. Zu ihnen gehören sowohl benigne fibroblastäre Hyperproliferationszustände (hier insbesondere postinfektiös, postinflammatorisch und posttraumatisch: hypertrophe Narben, Keloide, Angiofibrome, Dermatofibrome, Fibrolipome, Ulcusnarben), die auch auch im Rahmen disseminierter (Myo-)Fibromatosen auftreten (z.B. kongenitale disseminierte Fibromatose), als auch maligne fibroblastäre Hyperproliferationszustände (z.B. Fibrosarkome, Mischtumoren wie atypisches Fibroxanthom, malignes fibröses Histiozytom, aggressives Angiomyxom, Paraneoplasien). Eine weitere Erkrankungsgruppe bilden fibrosierende Autoimmunerkrankungen wie die lokalisierte und systemische Sklerodermie in ihren verschiedenen Ausprägungen (zirkumskripte S., progressiv-systemische S., CREST-Syndrom), die Dermatosklerose bei anderen Kollagenosen und die cutane Variante der Graft-versus-Host-Erkrankung. Veränderte Differenzierungszustände der Fibroblasten sind Ausdruck verschiedener fibrosierender Erkrankungen mit derzeit noch weitgehend ungeklärter Ätiologie. Hierzu zählen der Lichen sclerosus et atrophicus und die heterogene Gruppe der Pseudosklerodermien (wie z.B. die eosinophile/proliferierende Fasciitis, exogen verursachte Pseudosklerodermien wie Toxic oil syndrome, Silikose, Porphyrien, Eosinophilie-Myalgie-Syndrom, Lichen myxödematosus oder Borrelien-assoziierte Fibrosierungen). Weiterhin gibt es sekundäre Sklerosierungen wie z.B. im Rahmen einer Stauungsfibrose bei chronisch venöser Insuffizienz und bei Lipolymphödenen, im fibrosierenden Spätstadium der Alopecia androgenetica und seltene lokalisierte fibroblastäre Erkrankungen (M. Dupuytren, M. Ledderhose, "Knuckle pads", Induratio penis plastica).

Stand der Technik

[0003] Peptidasen wie die Dipeptidylpeptidase IV

und die Aminopeptidase N oder ähnlich wirkende Enzyme sind für die Regulation bzw. Modulation von Wechselwirkungen zwischen Zellen besonders interessant, da sie zum Teil als Ektoenzyme in der Plasmamembran der Zellen lokalisiert sind, Interaktionen mit anderen extrazellulären Strukturen eingehen, peptiderge Botenstoffe durch enzymkatalysierte Hydrolyse aktivieren bzw. inaktivieren und dadurch wichtig für die Zell-Zell-Kommunikation sind [Yaron A, et al.: Proline-dependent structural and biological properties of peptides and proteins. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1993;28:31-81; Vanhoof G, et al.: Proline motifs in peptides and their biological processing. *FASEB J* 1995;9:736-744].

[0004] Es ist gezeigt worden, dass im Prozess der Aktivierung und klonalen Expansion von Immunzellen, insbesondere von T-Lymphozyten, membranständige Peptidasen wie DP IV oder APN eine Schlüsselrolle spielen [Fleischer B: CD26 a surface protease involved in T-cell activation. *Immunology Today* 1994; 15:180-184; Lendeckel U et al.: Role of alanyl aminopeptidase in growth and function of human T cells. *International Journal of Molecular Medicine* 1999; 4:17-27; Riemann D et al.: CD13 - not just a marker in leukemia typing. *Immunology Today* 1999; 20:83-88]. Verschiedene Funktionen Mitogen-stimulierter mononukleärer Zellen (MNZ) oder angereicherter T-Lymphozyten wie DNA-Synthese, Produktion und Sekretion von immunstimulierenden Zytokinen (IL-2, IL-6, IL-12, IFN- γ) und Helferfunktionen für B-Zellen (IgG- und IgM-Synthese) können in Gegenwart von spezifischen Inhibitoren der DP IV oder der APN gehemmt werden [Schön E et al.: The dipeptidyl peptidase IV, a membrane enzyme involved in the proliferation of T lymphocytes. *Biomed. Biochim. Acta* 1985; 2: K9-K15; Schön E et al.: The role of dipeptidyl peptidase IV in human T lymphocyte activation. Inhibitors and antibodies against dipeptidyl peptidase IV suppress lymphocyte proliferation and immunoglobulin synthesis in vitro. *Eur. J. Immunol.* 1987; 17: 1821-1826; Reinhold D et al.: Inhibitors of dipeptidyl peptidase IV induce secretion of transforming growth factor β 1 in PWM-stimulated PBMNC and T cells. *Immunology* 1997; 91: 354-360; Lendeckel U et al.: Induction of the membrane alanyl aminopeptidase gene and surface expression in human T-cells by mitogenic activation. *Biochem. J.* 1996; 319: 817-823; Kähne T et al.: Dipeptidyl peptidase IV: A cell surface peptidase involved in regulating T cell growth (Review). *Int. J. Mol. Med.* 1999; 4: 3-15; Lendeckel U et al.: Role of alanyl aminopeptidase in growth and function of human T cells (Review). *Int. J. Mol. Med.* 1999; 4: 17-27].

[0005] Es ist bereits bekannt, daß die Behandlung von Autoimmunerkrankungen und Transplantatabstoßung durch Hemmung der auf Immunzellen lokalisierten Dipeptidylpeptidase IV mit Hilfe von synthetischen Inhibitoren möglich ist (z. B. EP-A 0 764.151,

WO 095/29691, EP-A 0 731 789, EP-A 0 528 858).

[0006] Der Erfindung liegt der überraschende Befund zugrunde, dass die einzelne oder gleichzeitige Wirkung von Inhibitoren der auf bzw. in Fibroblasten exprimierten Dipeptidylpeptidase IV/DP IV bzw. CD26 oder von Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität (DP IV-analoge Enzymaktivität) und von Inhibitoren der Amino-peptidase N/APN bzw. CD13 oder von Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität (APN-analoge Enzymaktivität), die Proliferation (DNA-Synthese) von Fibroblasten hemmt.

[0007] Unsere Erfindung zeigt, dass zur Therapie und zur Prävention von dermatologischen Erkrankungen mit fibroblastärer Hyperproliferation und veränderten Differenzierungszuständen, für deren Entstehung die Proliferation und die differenzierte Regelung der DNA-Synthese von Fibroblasten eine zentrale Bedeutung hat, die einzelne oder gleichzeitige Applikation von Hemmstoffen der DP IV und der APN oder von Hemmstoffen von Enzymen gleicher Substratspezifität (APN- oder/und DP IV-analoge Enzymaktivität) bzw. entsprechender Zubereitungen und Darreichungsformen daraus geeignet sind.

[0008] Im einzelnen liegen der Erfindung die Befunde zugrunde, dass die DNA-Synthese von Fibroblasten durch die Gabe von Inhibitoren der Dipeptidylpeptidase IV oder von Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität oder/und von Inhibitoren der Amino-peptidase N oder von Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität signifikant inhibiert wird.

[0009] Die oben genannten Erkrankungen werden bisher topisch und/oder systemisch mit Immunsuppressiva, Glukokortikosteroiden, unspezifischen Antiinflammativa und Emollientien sowie symptomatisch mit Physiotherapie behandelt. Insbesondere bei den systemischen Medikationen treten häufig unerwünschte Nebenwirkungen auf. Dies sind u. a. Cushing Syndrom, Osteoporose, Infektionen oder Diabetes mellitus. Bei der Lokaltherapie stehen eine örtliche Hautatrophie und erhöhte Hautverletzlichkeit im Vordergrund. Sowohl bei der systemischen als auch bei der lokalen immunsuppressiven Therapie können Hauttumoren propagiert werden.

[0010] Der Einsatz von DP IV- oder/und APN-Inhibitoren würde bei den genannten Erkrankungen vor allem in den frühen Stadien eine gänzlich neuartige, vorraussichtlich sehr effektive, möglicherweise kostengünstige Therapieform und einen wertvollen alternativen Bestandteil der bestehenden Therapiekonzepte darstellen.

[0011] Die erfindungsgemäß applizierten Inhibitoren der Dipeptidylpeptidase IV oder Inhibitoren von

Enzymen mit gleicher Substratspezifität (DP IV-analoge Enzymaktivität) oder/und Inhibitoren der Amino-peptidase N oder Inhibitoren von Enzymen gleicher Substratspezifität (APN-analoge Enzymaktivität) können in pharmazeutisch anwendbaren Formulierungskomplexen als Inhibitoren, Substrate, Pseudosubstrate, inhibitorisch wirkende Peptide und Peptid-derivate sowie als Antikörper dieser Enzyme zur Anwendung kommen. Die Inhibitoren gemäß der Erfindung werden allein oder in Kombination von mehreren von ihnen, vorzugsweise in Kombination von zweien von ihnen, eingesetzt.

[0012] Bevorzugte Effektoren sind für die DP IV Xaa-Pro-Dipeptide, entsprechende Derivate, vorzugsweise Dipeptidphosphonsäurediarylester, Dipeptidboronsäuren (z. B. Pro-boro-Pro) und deren Salze, Xaa-Xaa-(Trp)-Pro-(Xaa)_n-Peptide (n = 0 bis 10), entsprechende Derivate und deren Salze bzw. Aminosäure (Xaa)-amide, entsprechende Derivate und deren Salze, wobei Xaa eine α -Aminosäure/Iminosäure bzw. ein α -Aminosäurederivat/Iminosäurederivat, vorzugsweise N^ε-4-Nitrobenzyl-oxycarbonyl-L-Lysin, L-Prolin, L-Tryptophan, L-Isoleucin, L-Valin ist und als Amidstruktur cyclische Amine, z.B. Pyrrolidin, Piperidin, Thiazolidin und deren Derivate fungieren. Derartige Verbindungen und deren Herstellung wurden in einem früheren Patent beschrieben (K. Neubert et al. DD296075A5). Weiter können als Effektoren für die DP IV mit Vorteil Tryptophan-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-derivate (TSL) und (2S,2S',2S'')-2-{2''-{2'''-amino-3'''-(indol-3'''-yl)-1'''-oxopropyl}-1',2',3',4'-tetrahydro-6'8'-dihydroxy-7-methoxyisochinol-3-yl-carbonyl-amino}-4-hydromethyl-5-hydropentansäure (TMC-2A) verwendet werden. Ein beispielhafter, mit Vorteil verwendbarer Inhibitor von DP IV ist Lys[Z(NO₂)-thiazolidid, worin Lys für einen L-Lysin-Rest steht und Z(NO₂) für 4-Nitrobenzyloxycarbonyl steht (vgl. DD-A 296075).

[0013] Als Inhibitoren der Alanyl-amino-peptidase (Amino-peptidase N, APN) kommen erfindungsgemäß beispielsweise Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Phobestin, β -Aminothirole, α -Aminophosphinsäuren, α -Aminophosphinsäure-derivate, vorzugsweise D-Phe- ψ -PO(OH)-CH₂]-Phe-Phe und deren Salze in Betracht. Bevorzugte Inhibitoren für die Alanyl-Amino-peptidase sind Bestatin (Ubenimex), Actinonin, Phobestin, Phebestin, RB3014 oder Leuhistin.

[0014] Die Inhibitoren oder diese enthaltende pharmazeutische Zubereitungen werden simultan mit bekannten Trägerstoffen verabreicht. Von der Erfindung umfaßt sind auch pharmazeutische Zubereitungen, die zwei oder mehrere der Inhibitoren der DP IV bzw. Inhibitoren von Enzymen mit DP IV-analoger Enzymaktivität oder/und der APN bzw. Inhibitoren von Enzymen mit APN-analoger Enzymaktivität in räumlich ge-

trennter Formulierung in Kombination mit an sich bekannten Träger-, Hilfs- und/oder Zusatzstoffen zur gleichzeitigen oder zeitlich unmittelbar aufeinanderfolgenden Verabreichung mit dem Ziel einer gemeinsamen Wirkung umfassen.

[0015] Die Verabreichung erfolgt einerseits als topische Applikation in Form von z.B. Cremes, Salben, Pasten, Gelen, Lösungen, Sprays, Liposomen und Nanosomen, Schüttelmixturen, "pegylierten" Formulierungen, degradierbaren (d. h. unter physiologischen Bedingungen abbaubaren) Depot-Matrices, Hydrokolloidverbänden, Pflastern, Mikroschwämmen, Prepolymeren und ähnlichen neuen Träger-substraten, Jet-Injektion bzw. anderen dermatologischen Grundlagen/Vehikeln einschließlich instillativer Applikation, und andererseits als systemische Applikation zur oralen, transdermalen, intravenösen, subcutanen, intracutanen, intramuskulären Anwendung in geeigneten Rezepturen bzw. in geeigneter Galenik.

[0016] Der/die Inhibitor(en) gemäß der Erfindung sowie Zubereitungen, die einen oder mehrere von den genannten Inhibitoren und gegebenenfalls noch weitere Komponenten wie weitere Inhibitoren, sowie pharmazeutisch verträgliche Zusatz-, Hilfs- oder Trägerstoffe enthalten, kommen bei einer ganzen Anzahl von dermatologischen Erkrankungen bzw. Zuständen mit Hyperproliferation und veränderten Differenzierungszuständen von Fibroblasten vorbeugend oder therapierend zur Anwendung. Beispielhaft können genannt werden eine Vorbeugung und Therapie von sowohl benignen fibrosierenden und sklerosierenden Erkrankungen (hier insbesondere postinfektiös und posttraumatisch: hypertrophe Narben, Keloida, Dermatofibrome, Fibrolipome wie auch disseminierte (Myo)-Fibromatosen) als auch malignen fibroblastären Hyperproliferationszuständen (z.B. Fibrosarkome, Mischtumoren wie atypisches Fibroxanthom, malignes fibröses Histiozytom, aggressives Angiomyxom, Paraneoplasien), von fibrosierenden Autoimmunerkrankungen wie der Sklerodermie (zirkumskripte Sklerodermie, progressiv-systemische Sklerodermie, CREST-Syndrom), der Dermatosklerose bei anderen Kollagenosen und der Graft-versus-Host-Erkrankung, des Lichen sclerosus et atrophicus und der heterogenen Gruppe der Pseudosklerodermien (wie z.B. die eosinophile/proliferierende Fasciitis, exogen verursachte Pseudosklerodermien wie Toxic oil syndrome, Silikose, Porphyrien, Eosinophilie-Myalgie-Syndrom, Lichen myxödematosus oder Borrelien-assoziierte Fibrosierungen), von sekundären Sklerosierungen wie z.B. im Rahmen einer Stauungsfibrose bei chronisch venöser Insuffizienz und bei Lipolymphödemem, im fibrosierenden Spätstadium der Alopecia androgenetica und von seltenen lokalisierten fibroblastären Erkrankungen (M. Dupuytren, M. Ledderhose, "Knuckle pads", Induratio penis plastica).

[0017] Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Therapie und Prävention dermatologischer Erkrankungen mit Hyperproliferation und veränderten Differenzierungszuständen von Fibroblasten, das die Verabreichung von Inhibitoren der Dipeptidylpeptidase IV (DP IV) sowie von Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität (DP IV-analoge Enzymaktivität) oder/und von Inhibitoren der Alanyl-Aminopeptidase (Aminopeptidase N, APN) sowie von Inhibitoren von Enzymen gleicher Substratspezifität (APN-analoge Enzymaktivität) an einen Patienten umfaßt, der zur Prävention und/oder Therapie der obengenannten dermatologischen Erkrankungen einer Behandlung bedarf.

[0018] In besonders bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung werden an einen unter einer oder mehreren der nachfolgend im einzelnen genannten dermatologischen Erkrankungen leidenden oder einer Prävention der nachfolgend genannten Krankheiten bedürftenden Patienten ein Inhibitor oder mehrere Inhibitoren der genannten Enzyme oder eine oder mehrere, diese Inhibitoren einzeln oder bevorzugt in Kombination enthaltende pharmazeutische Zubereitungen verabreicht, die gewählt sind aus Inhibitoren der DP IV und besonders bevorzugt aus Xaa-Pro-Dipeptiden (Xaa = α -Aminosäure bzw. seitenkettengeschütztes Derivat), entsprechenden Derivaten, vorzugsweise Dipeptidphosphonsäuredianletern, Dipeptidboronsäuren (z.B. Pro-boro-Pro) und deren Salzen, Xaa-Xaa-(Trp)-Pro-(Xaa)_n-Peptiden (Xaa = α -Aminosäure, n = 0 bis 10), entsprechenden Derivaten und deren Salzen, Aminosäure (Xaa)-amiden, entsprechende Derivaten und deren Salzen, wobei Xaa eine α -Aminosäure bzw. ein seitenkettengeschütztes Derivat, vorzugsweise N⁴-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin, L-Isoleucin, L-Valin, L-Tryptophan, L-Prolin, ist und als Amidstruktur cyclische Amine, z.B. Pyrrolidin, Piperidin, Thiazolidin und deren Derivate fungieren, und/oder Tryptophan-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-derivate (TSL) und (2S,2S',2S'')-2-[2'-(2'-amino-3''-(indol-3'''-yl)-1''-oxopropyl)-1',2',3',4'-tetrahydro-6'8'-dihydroxy-7-methoxyisochinolin-3-yl-carbonyl-amino]-4-hydromethyl-5-hydropentansäure (TMC-2A), und Inhibitoren der APN, besonders bevorzugt Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, β -Aminothiolen, α -Aminophosphinsäuren, α -Aminophosphinsäurederivaten, vorzugsweise D- ψ -Phe-PO(OH)-CH₂]-Phe-Phe, und deren Salzen.

[0019] In weiteren bevorzugten Verfahren gemäß der Erfindung kommen die Inhibitoren und gegebenenfalls ihre Kombinationen und diese enthaltende pharmazeutische Zubereitungen zur Anwendung bei der Prävention und Therapie von Erkrankungen und bzw. Zuständen mit Hyperproliferation und veränderten Differenzierungszuständen von Fibroblasten. Beispielhaft können genannt werden eine Vorbeu-

gung und Therapie von sowohl benignen fibrosierenden und sklerosierenden Erkrankungen (hier insbesondere postinfektiös und posttraumatisch: hypertrophe Narben, Keloide, Dermatofibrome, Fibrolipome wie auch disseminierte (Myo)-Fibromatosen) als auch malignen fibroblastären Hyperproliferationszuständen (z.B. Fibrosarkome, Mischtumoren wie atypisches Fibroxanthom, malignes fibröses Histiozytom, aggressives Angiomyxom, Paraneoplasien), von fibrosierenden Autoimmunerkrankungen wie der Sklerodermie (zirkumskripte Sklerodermie, progressiv-systemische Sklerodermie, CREST-Syndrom), der Dermatosklerose bei anderen Kollagenosen und der Graft-versus-Host-Erkrankung, des Lichen sclerosus et atrophicus und der heterogenen Gruppe der Pseudosklerodermien (wie z.B. die eosinophile/proliferierende Fasciitis, exogen verursachte Pseudosklerodermien wie Toxic oil syndrome, Silikose, Porphyrien, Eosinophilie-Myalgie-Syndrom, Lichen myxödematosus oder Borrelienassozierte Fibrosierungen), von sekundären Sklerosierungen wie z.B. im Rahmen einer Stauungsfibrose bei chronisch venöser Insuffizienz und bei Lipolymphödemem, im fibrosierenden Spätstadium der Alopecia androgenetica und von seltenen lokalisierten fibroblastären Erkrankungen (M. Dupuytren, M. Ledderhose, "Knuckle pads", Induratio penis plastica).

[0020] In erfindungsgemäß besonders bevorzugten Präventions- und/oder Therapieverfahren werden einer oder mehrere der genannten Inhibitoren der DP IV und/oder APN in der Weise zur Anwendung gebracht, daß zwei oder mehrere der Inhibitoren der DP IV bzw. Inhibitoren von Enzymen mit DP IV-analoger Enzymaktivität oder/und Inhibitoren der APN bzw. Inhibitoren von Enzymen mit APN-analoger Enzymaktivität in räumlich getrennter Formulierung in Kombination mit an sich bekannten Träger-, Hilfs- und/oder Zusatzstoffen gleichzeitig oder zeitlich unmittelbar aufeinander folgend mit dem Ziel einer gemeinsamen Wirkung verabreicht werden. Die Verabreichung erfolgt als systemische Anwendung zur oralen, transdermalen, percutanen, intravenösen, subcutanen, intracutanen, intramuskulären, rektalen, vaginalen, sublingualen Applikation zusammen mit an sich bekannten Träger-, Hilfs- und/oder Zusatzstoffen und/oder als topische Anwendung in Form von Cremes, Salben, Pasten, Gelen, Lösungen, Sprays, Liposomen bzw. Nanosomen, "pegylierten" Formulierungen, degradierbaren Depot-Matrices, Schüttelmixturen, Hydrokolloidverbänden, Pflastern, Mikroschwämmen, Prepolymeren und ähnlichen neuen Trägersubstraten, Jet-Injektionen bzw. anderen dermatologischen Grundlagen/Vehikeln, einschließlich instillativer Applikation.

[0021] Die Erfindung wird anhand der nachfolgenden Beispiele näher erläutert. Die Beispiele zeigen bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung. Die Erfindung ist jedoch nicht auf die bevorzugten Aus-

führungsformen beschränkt.

Ausführungsbeispiel

Ausführungsbeispiel 1

[0022] Unsere Untersuchungen zeigen, dass die DNA-Synthese humaner Fibroblasten durch die Administration von Inhibitoren der DP IV (Lys[Z(NO₂)]-thiazolidid) oder/und der APN (Actinonin) dosisabhängig gehemmt wird.

[0023] Humane Fibroblasten exprimieren stark DP IV und APN (Fig. 1). Die Enzymaktivität der DP IV von vitalen Zellen beträgt $57,3 \pm 12,4$ pkat/10⁶ Zellen, die der APN beträgt $380,5 \pm 48,2$ pkat/10⁶ Zellen (n = 4). Entsprechend ist die mRNA von APN und DP IV auf diesen Zellen nachweisbar (Fig. 2).

[0024] Fibroblasten gesunder Spender wurden 48 h mit den oben genannten Inhibitoren inkubiert und anschließend über die Messung der ³[H]-Thymidin-Inkorporation die DNA-Synthese bestimmt, wie bei Reinhold et al. beschrieben (Reinhold D et al.: Inhibitors of dipeptidyl peptidase IV induce secretion of transforming growth factor β 1 in PWM-stimulated PBMC and T cells. Immunology 1997; 91: 354-360). Fig. 3 zeigt die dosisabhängige Hemmung der DNA-Synthese.

[0025] Zur Messung des dosisabhängigen Effekts von Inhibitoren der DP IV (Lys[Z(NO₂)]-thiazolidid) und der Aminopeptidase N (Actinonin) auf die DNA-Synthese humaner Fibroblasten wurden die Zellen über 48 Stunden mit den angegebenen Konzentrationen der Inhibitoren inkubiert. Anschließend wurde dem Kulturmedium ³[H]-Methyl-Thymidin zugesetzt und nach weiteren 6 Stunden die in die DNA eingebaute Menge an ³[H]-Thymidin gemessen. Die Ergebnisse zeigt Fig. 3.

Patentansprüche

1. Verwendung von Inhibitoren der Dipeptidyl-peptidase IV (DP IV) sowie von Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität (DP IV-analoge Enzymaktivität) oder/und von Inhibitoren der Alanin-Aminopeptidase (Aminopeptidase N, APN) sowie von Inhibitoren von Enzymen gleicher Substratspezifität (APN-analoge Enzymaktivität) zur Hemmung der Proliferation (DNA-Synthese) humaner Fibroblasten.

2. Verwendung nach Anspruch 1, worin die Inhibitoren der DP IV Xaa-Pro-Dipeptide (Xaa = α -Aminosäure bzw. seitenkettengeschütztes Derivat), entsprechende Derivate, vorzugsweise Dipeptidphosphonsäurediarylester, Dipeptidboronsäuren (z.B. Pro-boro-Pro) und deren Salze, Xaa-Xaa-(Trp)-Pro-(Xaa)n-Peptide (Xaa = α -Aminosäure, n = 0 bis 10), entsprechende Derivate und de-

ren Salze, Aminosäure (Xaa)-amide, entsprechende Derivate und deren Salze, wobei Xaa eine α -Aminosäure bzw. einseitenkettengeschütztes Derivat, vorzugsweise N^ε-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin, L-Isoleucin, L-Valin, L-Tryptophan, L-Prolin, ist und als Amidstruktur cyclische Amine, z.B. Pyrrolidin, Piperidin, Thiazolidin und deren Derivate fungieren, und/oder Tryptophan-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäurederivate (TSL) und (2S,2S',2S'')-2-[2'-[2''-amino-3''-(indol-3''-yl)-1''-oxo-1''-prolyl]-1',2',3',4'-tetrahydro-6'8'-dihydroxy-7-methoxyisochinol-3-yl-carbonyl-amino]-4-hydromethyl-5-hydropentansäure (TMC-2A) sind.

3. Verwendung nach Anspruch 1, worin Aminosäureamide, bevorzugt N^ε-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin-thiazolidid, -pyrrolidid und -piperidid sowie das entsprechende 2-Cyanothiazolidid-, 2-Cyanopyrrolidid- und 2-Cyanopiperididderivat, als DP IV-Inhibitoren eingesetzt werden.

4. Verwendung nach Anspruch 1, wobei als Inhibitoren der APN Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, β -Aminothiole, α -Aminophosphinsäuren, α -Aminophosphinsäurederivate, vorzugsweise D- ψ -Phe-PO(OH)-CH₂-Phe-Phe, und deren Salze fungieren.

5. Verwendung von Inhibitorkombinationen nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Vorbeugung und Therapie von sowohl benignen fibrosierenden und sklerosierenden Erkrankungen (hier insbesondere postinfektiös und posttraumatisch: hypertrophe Narben, Keloide, Dermatofibrome, Fibrolipome wie auch disseminierte (Myo)-Fibromatosen) als auch malignen fibroblastären Hyperproliferationszuständen (z.B. Fibrosarkome, Mischtumoren wie atypisches Fibroxanthom, malignes fibröses Histiozytom, aggressives Angiomyxom, Paraneoplasien), von fibrosierenden Autoimmunerkrankungen wie der Sklerodermie (zirkumskripte S., progressiv-systemische S., CREST-Syndrom), der Dermatosklerose bei anderen Kollagenosen und der Graft-versus-Host-Erkrankung, des Lichen sclerosus et atrophicus und der heterogenen Gruppe der Pseudosklerodermien (wie z.B. die eosinophile/proliferierende Fasciitis, exogen verursachte Pseudosklerodermien wie Toxic oil syndrome, Silikose, Porphyrien, Eosinophilie-Myalgie-Syndrom, Lichen myxödematosus oder Borrelienassozierte Fibrosierungen), von sekundären Sklerosierungen wie z.B. im Rahmen einer Stauungsfibrose bei chronisch venöser Insuffizienz und bei Lipo-lymphödem, im fibrosierenden Spätstadium der Alopecia androgenetica und von seltenen lokalisierten fibroblastären Erkrankungen (M. Dupuytren, M. Ledderhose, "Knuckle pads", Induratio penis plastica).

6. Pharmazeutische Zubereitungen, umfassend

Inhibitoren der Dipeptidylpeptidase IV (DP IV) oder Inhibitoren von Enzymen mit DP IV-analoger Enzymaktivität oder/und Inhibitoren der Alanyl-Amino-peptidase (Aminopeptidase N, APN) oder Inhibitoren von Enzymen mit APN-analoger Enzymaktivität in Kombination mit an sich bekannten Träger-, Zusatz- und/oder Hilfsstoffen.

7. Pharmazeutische Zubereitungen nach Anspruch 6, umfassend als Inhibitoren der DP IV Xaa-Pro-Dipeptide (Xaa = α -Aminosäure bzw. seitenkettengeschütztes Derivat), entsprechende Derivate, vorzugsweise Dipeptidphosphonsäurediarylester, Dipeptidboronsäuren (z. B. Pro-boro-Pro) und deren Salze, Xaa-Xaa-(Trp)-Pro-(Xaa)_n-Peptide (Xaa = α -Aminosäuren, n = 0–10), entsprechende Derivate und deren Salze bzw. Aminosäure (Xaa)-amide, entsprechende Derivate und deren Salze, wobei Xaa eine α -Aminosäure bzw. seitenkettengeschütztes Derivat, vorzugsweise N^ε-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin, L-Isoleucin, L-Valin, L-Tryptophan, L-Prolin ist und als Amidstruktur cyclische Amine, z.B. Pyrrolidin, Piperidin, Thiazolidin und deren Derivate fungieren.

8. Pharmazeutische Zubereitungen nach Anspruch 6, umfassend als Inhibitoren der DP IV vorzugsweise Aminosäureamide, z.B. N^ε-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin-thiazolidid, -pyrrolidid und -piperidid sowie das entsprechende 2-Cyanothiazolidid-, 2-Cyanopyrrolidid- und 2-Cyanopiperididderivat.

9. Pharmazeutische Zubereitungen nach Anspruch 6, umfassend als Inhibitoren der APN Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, β -Aminothiole, α -Aminophosphinsäuren, α -Aminophosphinsäurederivate, bevorzugt D-Phe- ψ [PO(OH)-CH₂]-Phe-Phe und deren Salze.

10. Pharmazeutische Zubereitungen nach einem der Ansprüche 6 bis 9, umfassend zwei oder mehrere der Inhibitoren der DP IV bzw. Inhibitoren von Enzymen mit DP IV-analoger Enzymaktivität oder/und Inhibitoren der APN bzw. Inhibitoren von Enzymen mit APN-analoger Enzymaktivität in räumlich getrennter Formulierung in Kombination mit an sich bekannten Träger-, Hilfs- und/oder Zusatzstoffen zur gleichzeitigen oder zeitlich unmittelbar aufeinanderfolgenden Verabreichung mit dem Ziel einer gemeinsamen Wirkung.

11. Pharmazeutische Zubereitungen gemäß Ansprüchen 6 bis 9 für die systemische Anwendung zur oralen, transdermalen, percutanen, intravenösen, subcutanen, intracutanen, intramuskulären, rektalen, vaginalen, sublingualen Applikation zusammen mit an sich bekannten Träger-, Hilfs- und/oder Zusatzstoffen.

12. Pharmazeutische Zubereitungen gemäß An-

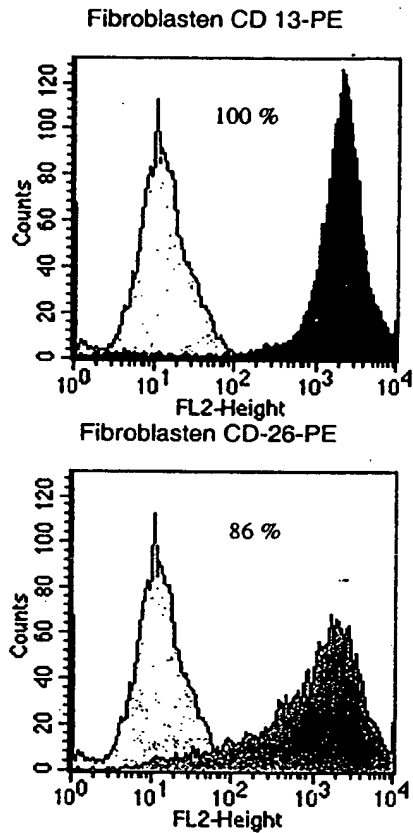
sprüchen 6 bis 10 für die topische Anwendung in Form von Cremes, Salben, Pasten, Gelen, Lösungen, Sprays, Liposomen bzw. Nanosomen, "pegylierten" Formulierungen, degradierbaren Depot-Matrices, Schüttelmixturen, Hydrokolloidverbänden, Pflastern, Mikroschwämmen, Prepolyomeren und ähnlichen neuen Trägersubstraten, Jet-Injektionen bzw. anderen dermatologischen Grundlagen/Vehikeln, einschließlich instillativer Applikation.

13. Verfahren zur Therapie und Prävention dermatologischer Erkrankungen mit Hyperproliferation und veränderten Differenzierungszuständen von Fibroblasten, umfassend die Verabreichung von Inhibitoren der Dipeptidylpeptidase IV (DP IV) sowie von Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität (DP IV-analoge Enzymaktivität) oder/und von Inhibitoren der Alanyl-Aminopeptidase (Aminopeptidase N, APN) sowie von Inhibitoren von Enzymen gleicher Substratspezifität (APN-analoge Enzymaktivität).

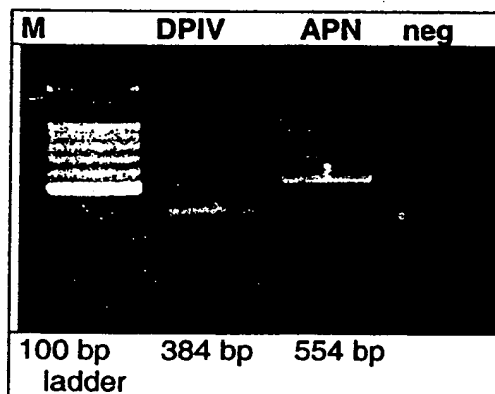
14. Verfahren nach Anspruch 13, worin ein Inhibitor oder mehrere Inhibitoren der genannten Enzyme oder eine oder mehrere, diese Inhibitoren einzeln oder bevorzugt in Kombination enthaltende pharmazeutische Zubereitungen) an einen Patienten verabreicht werden, die gewählt sind aus Inhibitoren der DP IV und besonders bevorzugt aus Xaa-Pro-Dipeptiden (Xaa = α -Aminosäure bzw. seitenkettengeschütztes Derivat), entsprechenden Derivaten, vorzugsweise Dipeptidphosphonsäuredianletern, Dipeptidboronsäuren (z.B. Pro-boro-Pro) und deren Salzen, Xaa-Xaa-(Trp)-Pro-(Xaa)_n-Peptiden (Xaa = α -Aminosäure, n = 0 bis 10), entsprechenden Derivaten und deren Salzen, Aminosäure (Xaa)-amiden, entsprechende Derivaten und deren Salzen, wobei Xaa eine α -Aminosäure bzw. ein seitenkettengeschütztes Derivat, vorzugsweise N^t-4-Nitrobenzyl-oxycarbonyl-L-Lysin, L-Isoleucin, L-Valin, L-Tryptophan, L-Prolin, ist und als Amidstruktur cyclische Amine, z.B. Pyrrolidin, Piperidin, Thiazolidin und deren Derivate fungieren, und/oder Tryptophan-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-derivate (TSL) und (2S,2S',2S'')-2-[2'-[2''-amino-3''-(indol-3''-yl)-1''-oxopropyl]-1',2',3',4'-tetrahydro-6'8'-dihydroxy-7-methoxyisochinol-3-yl-carbonyl-amino]-4-hydromethyl-5-hydropentansäure (TMC-2A), und Inhibitoren der APN, besonders bevorzugt Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, β -Aminothiolen, α -Aminophosphinsäuren, α -Aminophosphinsäurederivaten, vorzugsweise D- ψ -Phe-PO(OH)-CH₂-Phe-Phe, und deren Salzen.

Es folgen 2 Blatt Zeichnungen

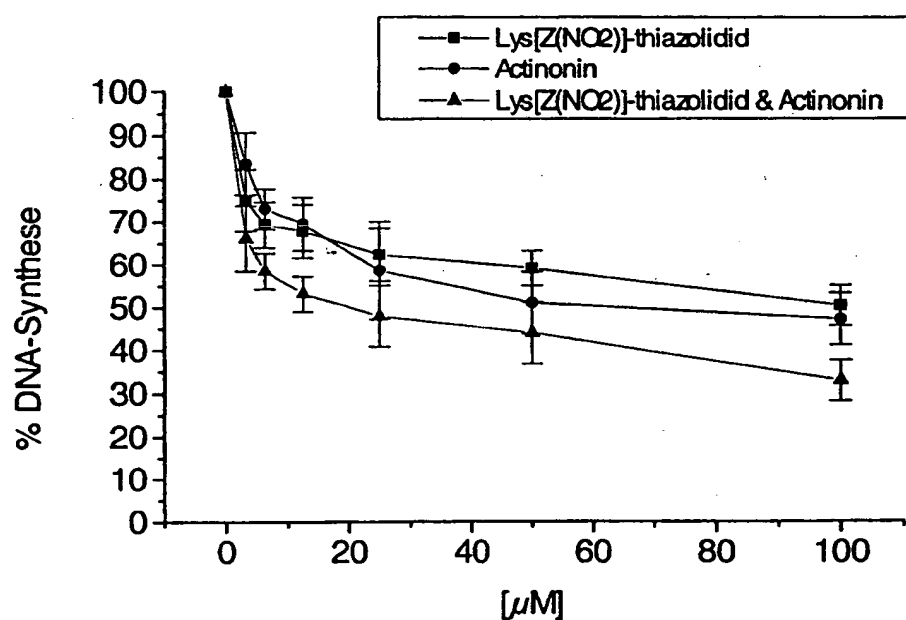
Anhängende Zeichnungen



Figur 1: Durchflußzytometrischer Nachweis der Expression von APN (CD13) und DP IV (CD26) auf Fibroblasten



Figur 2: Nachweis der mRNA-Expression von DP IV (CD26) und APN (CD13) auf Fibroblasten mittels RT-PCR



Figur 3: Dosisabhängiger Effekt von Inhibitoren der DP IV (Lys[Z(NO₂)]-thiazolidid) und der Aminopeptidase N (Actinonin) auf die DNA-Synthese humaner Fibroblasten.